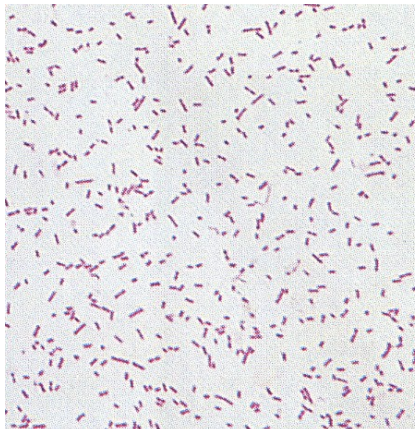
La famille des *Enterobacteriaceae*

V. Guérin-Faublée 2005-06

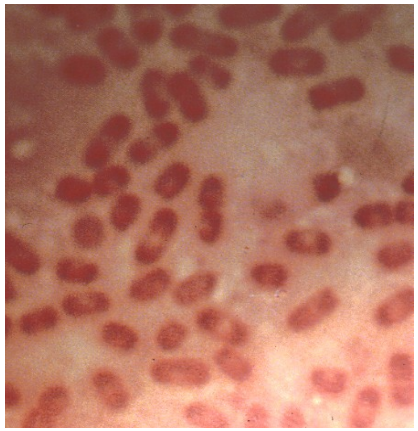
- **Bacilles à Gram –**
- **Non exigeants Poussant sur milieu ordinaire**
- **AAF, M oxydatif et fermentaire (gaz ±) oxydase -**



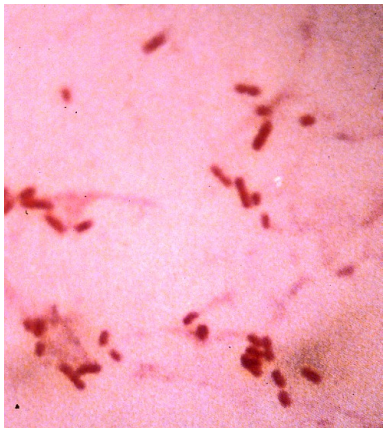
Escherichia coli

Klebsiella pneumoniae

- **4 antigènes**
  - **Ag commun à la famille**
  - **Ag O (LPS)**
  - **Ag H (flagelles)**
  - **Ag K (de surface)**



Yersinia pestis



Proteus mirabilis

- **Commensaux de l'intestin (homme, animaux homéothermes, poïkilothermes)**
- **Environnement (eaux, sol, plantes)**
- **Des parasites stricts**

- **Parfois pathogènes** (homme, animal, plantes, insectes)
- **Obligatoires ou opportunistes**

- *Escherichia coli*
- *Salmonella*
- *Yersinia*
- *Shigella*

- *Proteus mirabilis, P. vulgaris*

  ITU chez chien
- *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*

  endométrites chez jument (K1, K2, K7, K30) + …
- Mammites à entérobactéries chez la vache

  K. pneumoniae pneumoniae

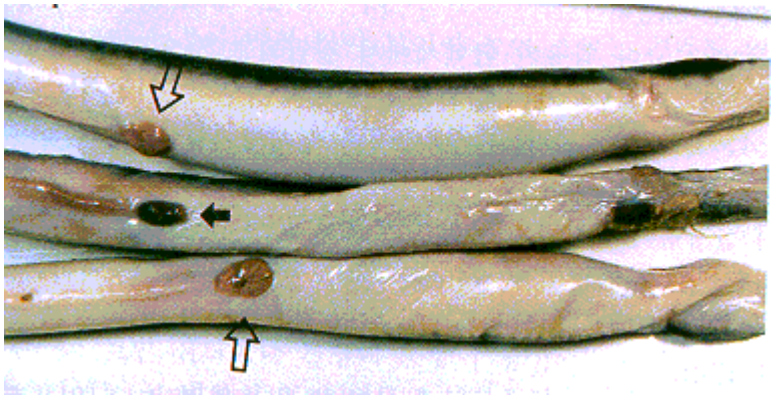
  K. oxytoca

  Serratia marcescens

  Enterobacter aerogenes

- *Edwardsiella tarda, E. ictaluri*

  pathogènes anguilles poissons chats (USA, Asie)
- *Hafnia alvei* pathogène abeille



<u>Pathogènes opportunistes</u>

- *Proteus mirabilis, P. vulgaris*

  otites chez chien ?
- *Enterobacter* sp. chez animal ?

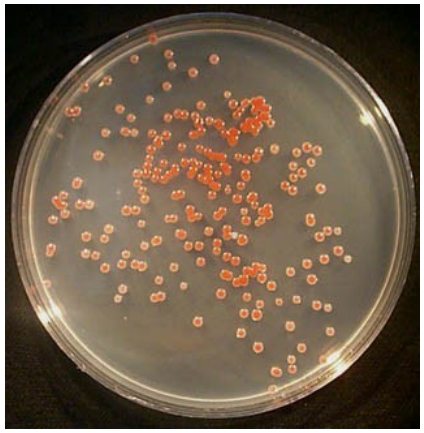
- *Cedecea, Citrobacter, Ewingella, Kluyvera, Leclercia, Leminorella, Moellerella, Pantoea, Photorhabdus, Providencia, Rahnella, Tatumella, …*

Diagnostic

- **Direct**

  isolement
  identification

Proteus mirabilis



Serratia marcescens

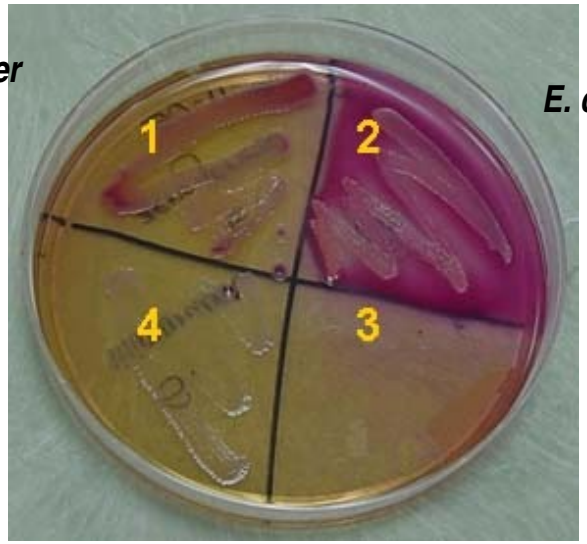
Escherichia coli

Parfois nécessité

d'interpréter le résultat
d'identifier un pathotype

Enterobacter

E. coli



Salmonella

Gélose de MacConkey

Traitement (1)

Antibiotiques

± T du choc endotoxinique ± T symptomatique

- **β-lactamines**

  1er groupe *Escherichia coli, Salmonella, Proteus mirabilis*

  Pénicillines A ± Ac clavulanique, C1G, 2G, 3G, 4G

  2ème groupe *Klebsiella pneumoniae* Pase S Ac clavulanique

  R naturelle pénicillines A, carboxypénicillines

  3ème groupe *Serratia, Enterobacter*,… Case R Ac clavulanique

  R pénicillines A ± Ac clavulanique, C1G

  4ème groupe *Yersinia* Pase + Case

- **Colistine**

  R naturelle de *Serratia*, *Proteus*, *Providencia*, *Yersinia pseudotuberculosis*

Traitement (2)

- **Aminosides**
- **Tétracyclines**

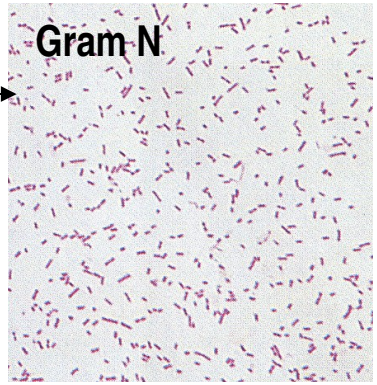
  R naturelle de *Proteus mirabilis*
- **Phénicolés**

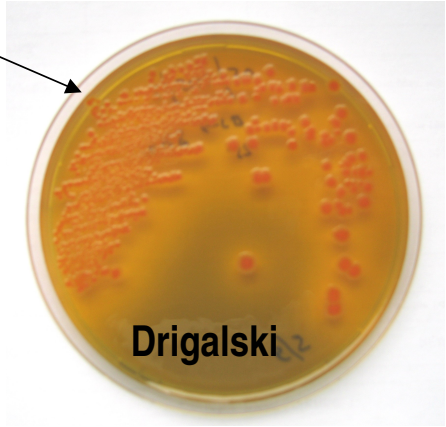
  R naturelle de *Providencia* sp., de certaines espèces de *Proteus*
- **Quinolones** anciennes, fluoroquinolones récentes
- **Sulfamides et diaminopyrimidines**

Escherichia coli

Caractères bactériologiques

- Bacilles mobiles ou pas capsulés ou pas
- **Lactose$^+$, gaz$^+$ coliformes**
- **Topt : 42°C**
- Nombreux sérotypes
- Grande plasticité génétique (éléments mobiles)





Habitat et pouvoir pathogène

- **Commensal du tube digestif** (homme, animaux homéothermes)
- **Résistance modérée aux agents physico-chimiques mais bonne survie milieu extérieur**

transmission le plus souvent indirecte

marqueur de contamination fécale

- **Des souches pathogènes (Ω, mammifères, oiseaux)**

facteurs de virulence ± $\sum$ de toxines protéiques

nombreux pathovars et infections très diverses

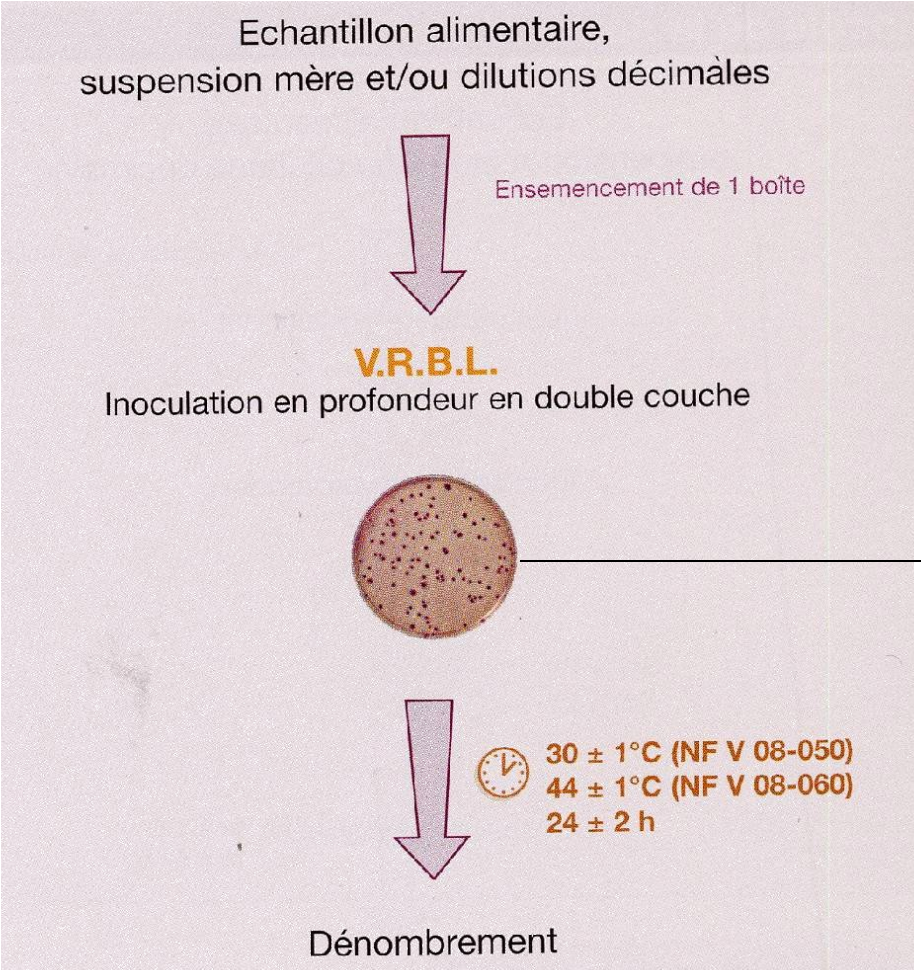
parfois rôle du LPS

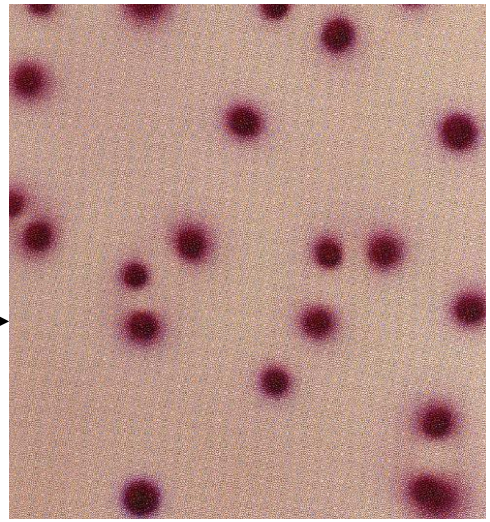
parfois pathogène opportuniste (infections suppurées diverses)

Diagnostic
Recherche pathovars
Sérovars

Prophylaxie
Hygiène
Vaccins

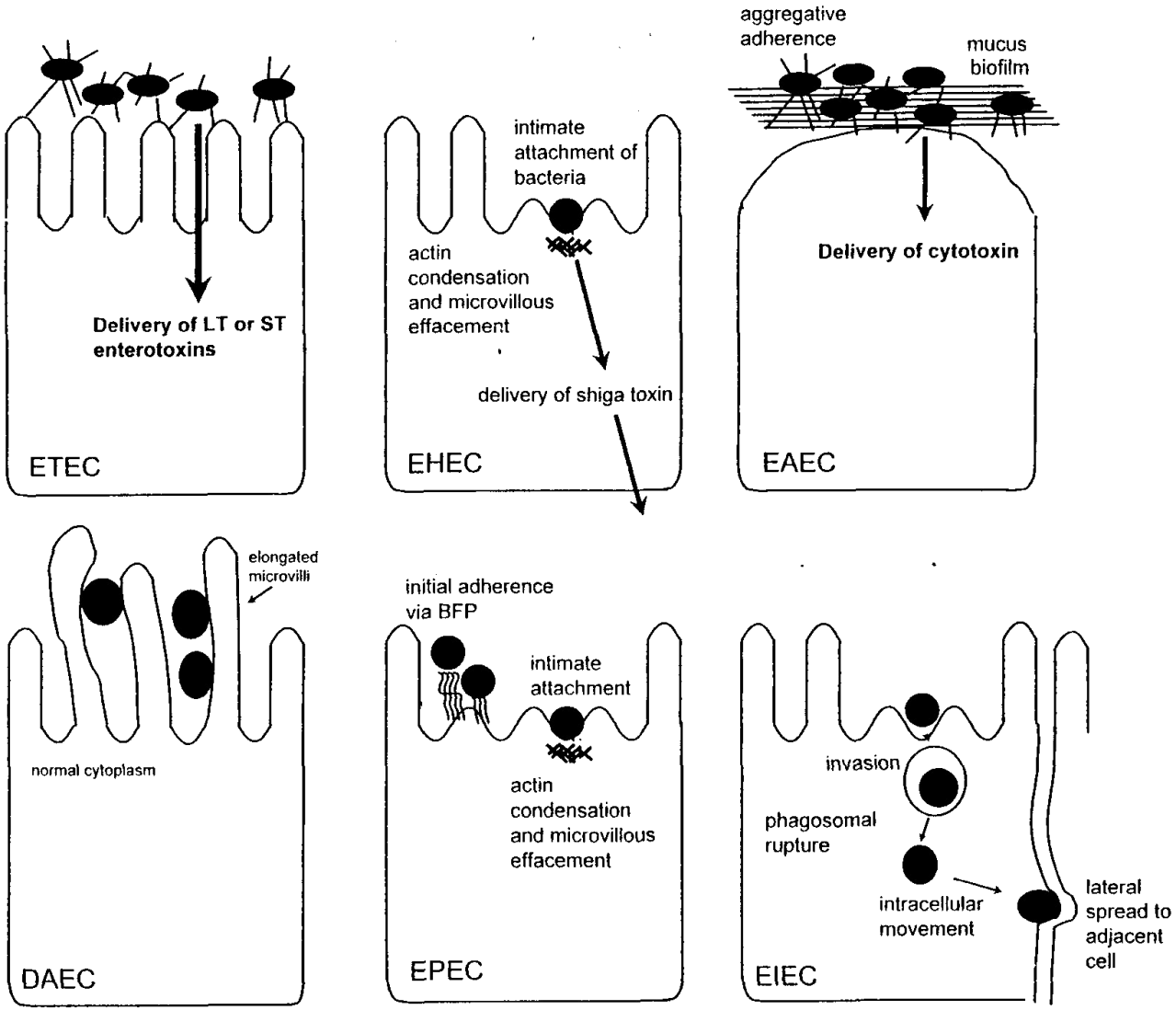
Dénombrement des coliformes et d'*E. coli* dans les aliments
NF V 08-050 NF V 08-060





Colonies lactose^{+}

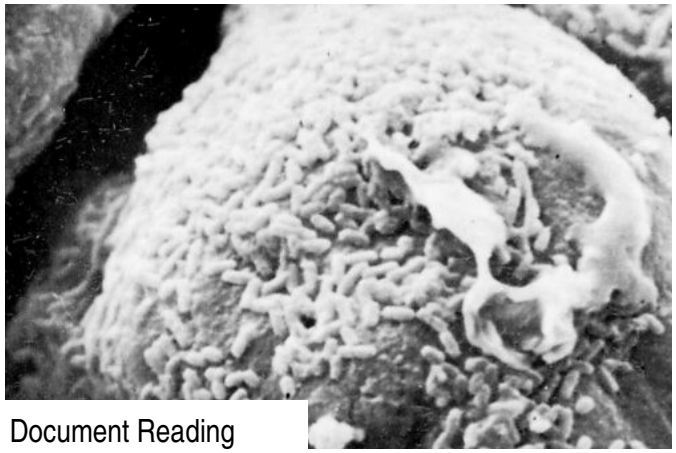
Infections intestinales



Nataro et Kaper, Clin Microbiol Rev, 1998 **11** : 142

ETEC : *Escherichia coli* entérotoxiques (1)

1 - adhésion

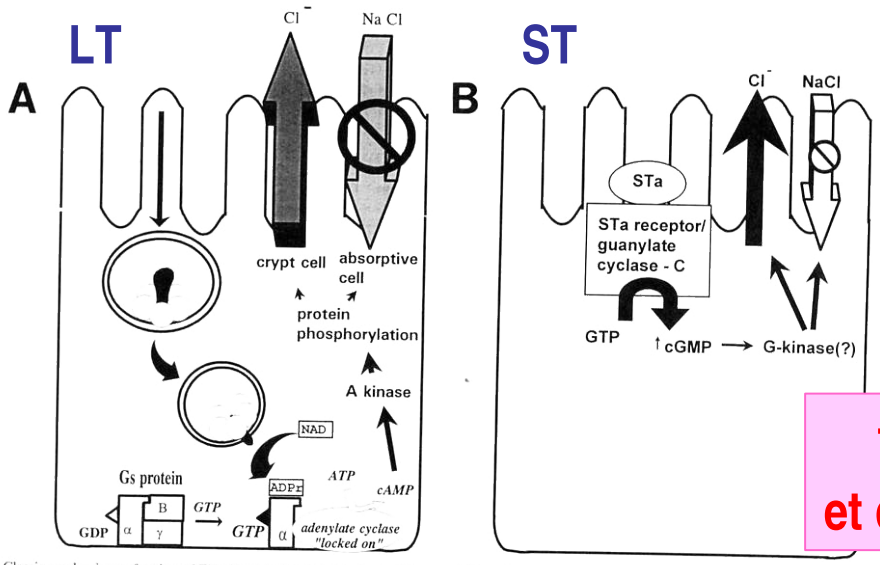


Document Reading

Veau	Porcelet
Pili	
F5 F17 F41	F4 F5 F6
…	…
Autres	
CS31A … …	

2 - entérotoxines

STa	LT STa



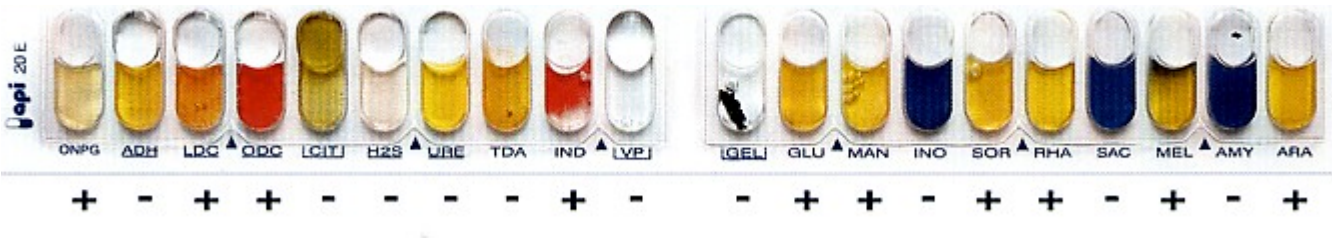
+ agneau
cabri ?

fuite H_20
et diarrhée néonatale

Nataro et Kaper, Clin Microbiol Rev, 1998 **11** : 142

ETEC : diagnostic (2)

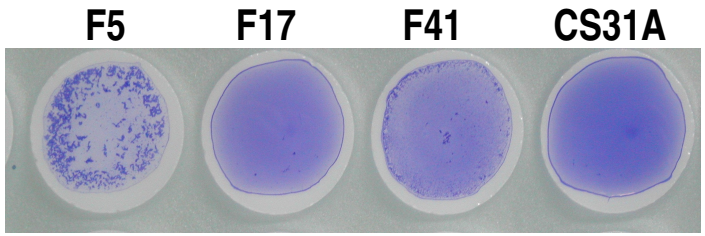
Isolement et identification



Numération colibacillaire

Recherche de facteurs d'attachement (Ag)

agglutination



ELISA (F5 souches bovines)

recherche toxine LT (souches porcines)

ETEC (3)

- **Traitement**

Antibiothérapie, réhydratation

Evolution vers la R antibiogramme

- **Prophylaxie**

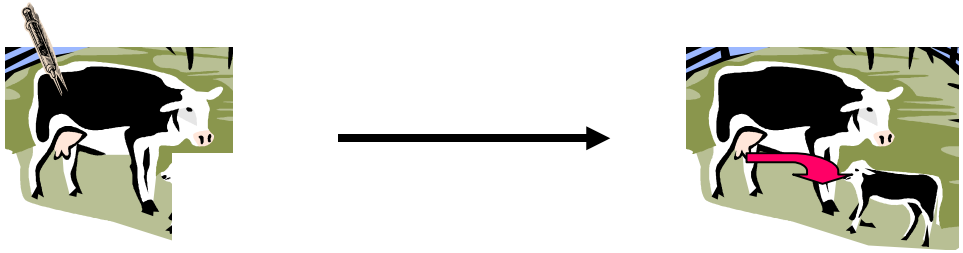
Médicale

vaccins tués (corps bactériens ou adhésines)

Veau F5, F17, F41, CS31A

Porcelet F4, F5, F6, F41 ± anatoxine LT

fin gestation



colostrum

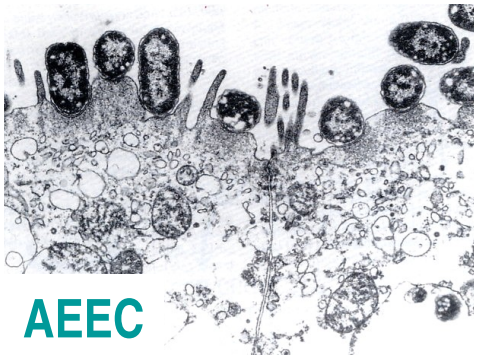
immmuno-colostrum Ac anti F5

Sanitaire

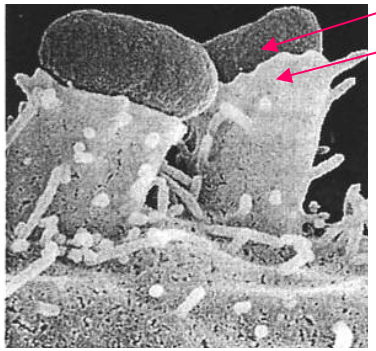
EPEC : *Escherichia coli* entéropathogènes

1 – adhésion lâche

2 – adhésion étroite



AEEC



<u>Fimbriae</u> et autres adhésines

<u>Appareil de sécrétion de type III</u>

Intimine

Récepteur (protéine Tir)

diarrhée par malabsorption

et sécrétion ?

Lapin ⟷ 0103

Veau ?

Autres ?

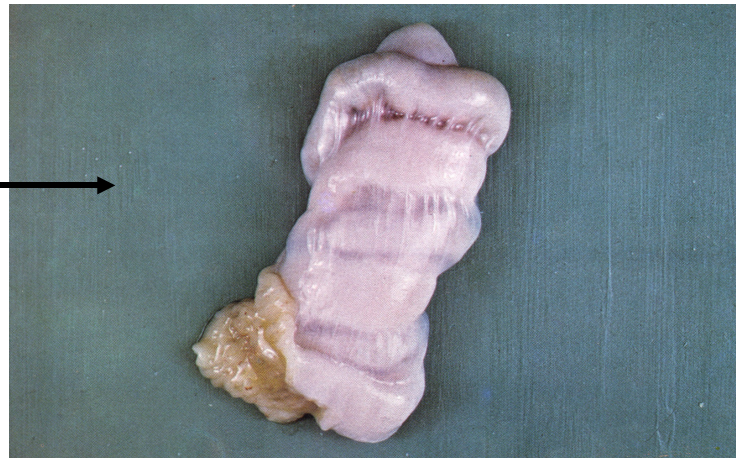
Nataro et Kaper, Clin Microbiol Rev, 1998 **11** : 142

Autres infections colibacillaires intestinales

- **Maladie de l'œdème**

  porcelet

  VTEC adhérant par pili



Documentation Sanders

- *E. coli* nécrotoxinogènes NTEC

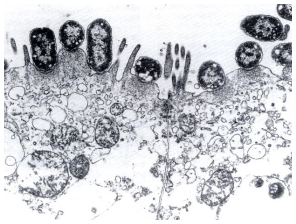
  toxines CNF

  diarrhée tous âges (bovins, porc)

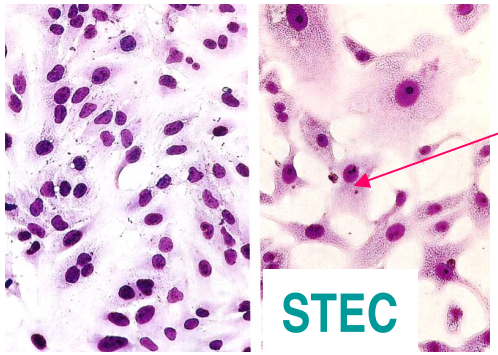
EHEC : *Escherichia coli* entérohémorragiques (1)

1 – adhésion lâche

2 – adhésion étroite



3 – toxines



<u>Fimbriae</u> et autres adhésines

<u>Appareil de sécrétion de type III</u>
Intimine
Récepteur (protéine Tir)

<u>Verotoxines</u> VT = Shiga-Like Toxins
Cellules endothéliales

colite hémorragique

Circulation sanguine ↓

Syndrome hémolytique et urémique (rein)
Purpura thrombocytopénique (cerveau)

Nataro et Kaper, Clin Microbiol Rev, 1998 **11** : 142
De Rycke et Oswald, Point Vétérinaire, 1994, **26** : 917

STEC (2)

- **Animaux**

  porteurs sains : bovins, ovins, caprins adultes

- **Homme** **ZOONOSE** **dose infectieuse très basse**

  - **Toxi-infections d'origine alimentaire**

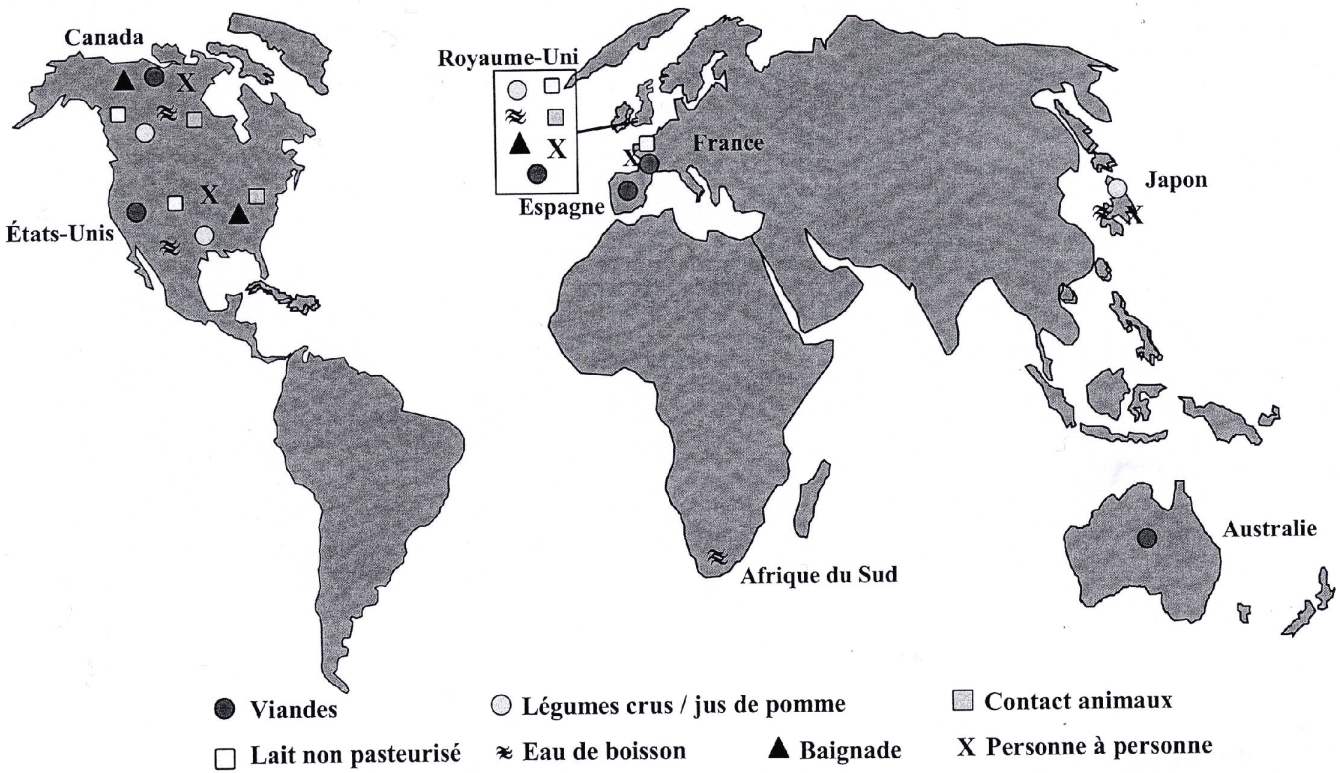
    0157:H7 + autres sérotypes

  - Contact direct

Fèces > 70 J + 5°C $a_w \geq 0,98$
Herbages → 99 J
pH acides +++

Viande de bœuf (hamburger) mal cuite
Produits laitiers non pasteurisés
Fruits, végétaux
Eaux de surface
Salami, mayonnaise, yaourt

STEC (3)
O157:H7



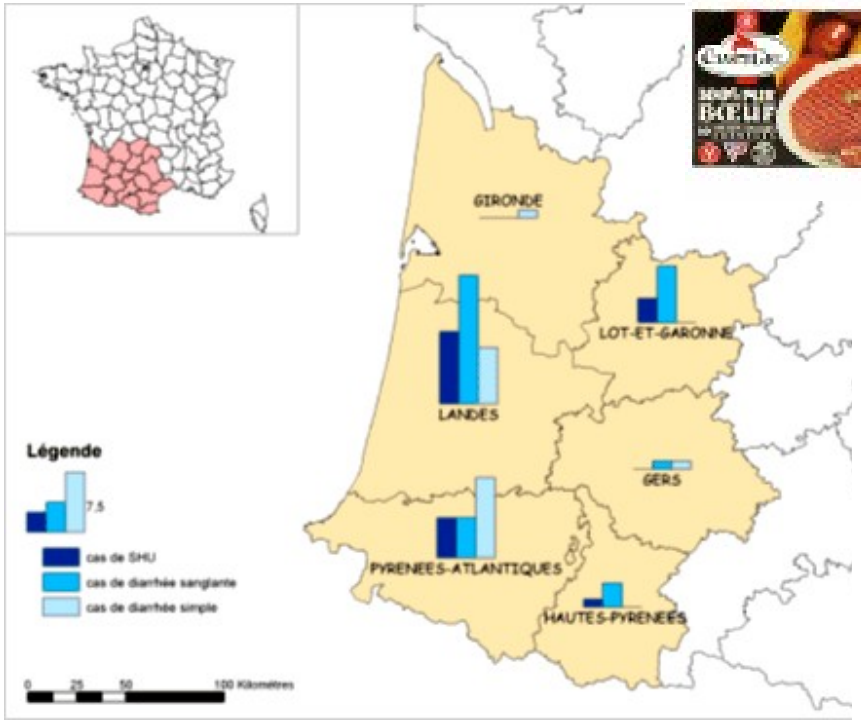
		N	SHU
1982	USA hamburgers		
1993	USA hamburgers	501	45 (3)
1996	Ecosse viande boeuf	512	34 (17)
1996	Japon radis blancs	9451	(12)
2000	Canada eau distribution	>2000	27 (7)

→ 2003	
Viande hachée de boeuf	21
Produits laitiers non pasteurisés	11
Produits végétaux crus, non pasteurisés	11
Eaux	12

AFSSA

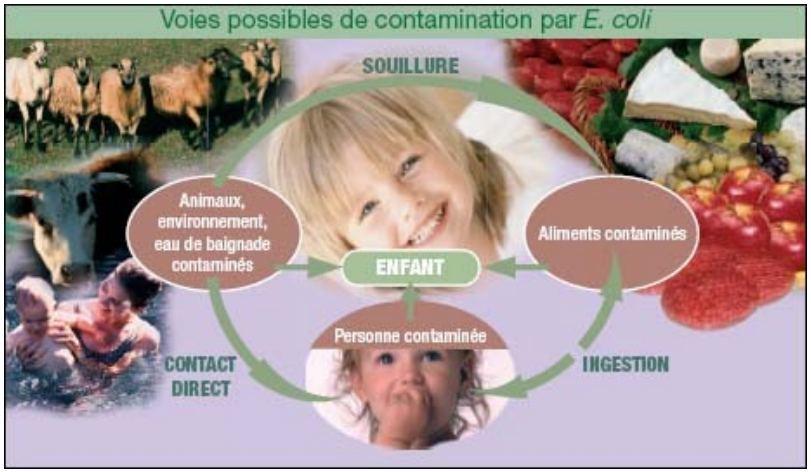
STEC (4)
France

		N	
2000 2002	Merguez Viande de mouton	10 11	O157:H7 O148:H8



Octobre – Novembre 2005
69 cas (18 SHU)

Puis



Institut de Veille Sanitaire

Escherichia coli O157:H7 (5)
ISO EN-16654

Echantillon

↓

Enrichissement

↓

Immunoconcentration

↓

2 milieux sélectifs

↓

5 colonies *E. coli* ? (indole)

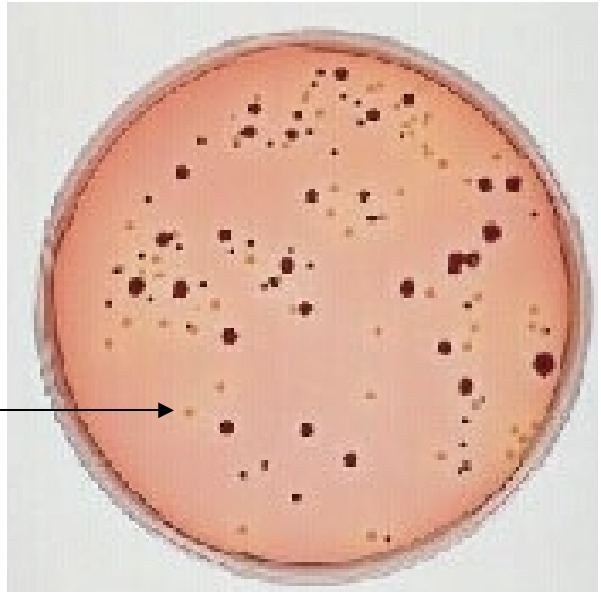
O157 ?

↓

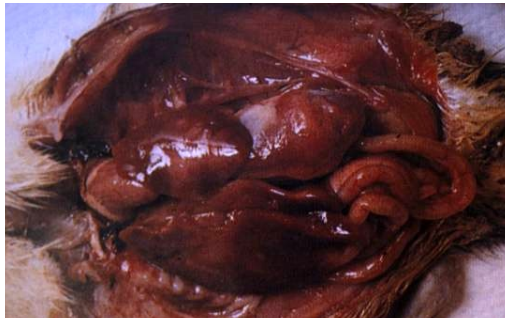
Confirmation Biochimie

H7

*stx*1, *stx*2 (PCR)



MacConkey Sorbitol (SMAC)



Infections extra-intestinales
(1) Septicémies

● Point de départ respiratoire

Volailles O1 O2 O78

Adhésion (pili F1, P [F11]; curli)
Captation du Fe (aérobactine)
R pouvoir bactéricide du sérum

Aérosacculite, polysérosite
ovarites salpingites ↓ ponte
souillure œufs † embryon
arthrites

● Point de départ digestif

Poulain

Veau, agneau, porcelet, chiot

Infections extra-intestinales (2)

- **Mammites**

  Vache Mammites d'environnement

  Choc endotoxinique

  Truie

- **Infections du tractus urinaire**

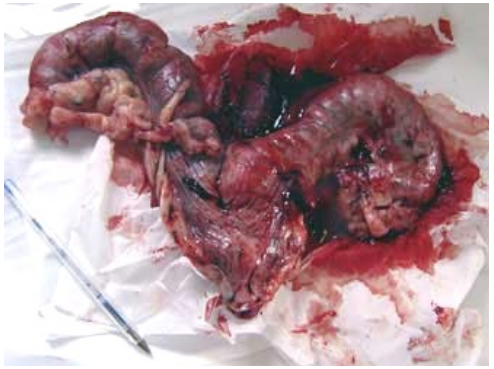
  Cystites (chien, porc)

  Pyélonéphrites (bovin, porc)

- **Infections génitales**

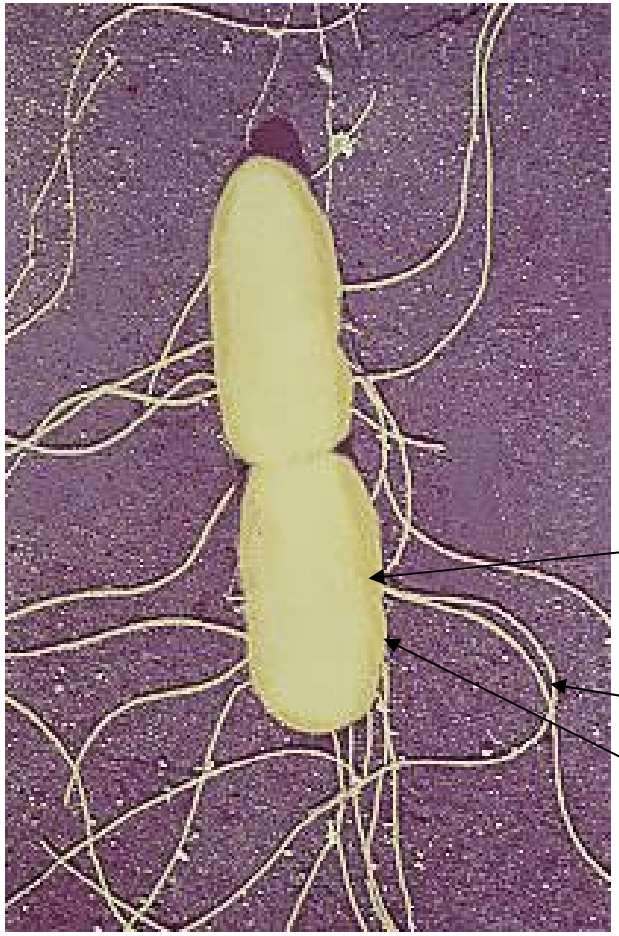
  Métrites, pyomètres,

  prostatite (chien)



Le genre *Salmonella*

Bactériologie



Salmonella Typhi
Institut Pasteur de Paris

- **Bacilles mobiles**
- **Lactose$^-$ gaz$^+$**
- **Très nombreux sérovars** :
  classification de Kauffmann-White

  AgO somatiques

  ≡ *LPS*

  AgH flagellaires

  diphasiques

  Ag Vi

Taxinomie

- ***Salmonella bongori***
- ***Salmonella enterica***

▲**subsp. *enterica*** (sous genre I) **> 2 000 sérovars**

S. *enterica* subsp. *enterica* Typhimurium 1,4,[5],12:i:1,2

S. *enterica* subsp. *enterica* Dublin 1,9,12,[Vi]:g,p:-

▲subsp. *salamae* (sous genre II)

▲ subsp. *arizonae* (sous genre III)

▲ subsp. *diarizonae* (sous genre III)

▲ subsp. *houtenae* (sous genre IV)

▲ subsp. *indica*

} **Animaux poïkilothermes**

Salmonella enterica subsp. *enterica*

- **Parasites stricts du tube digestif des vertébrés**

  sérotypes ubiquistes Typhimurium Enteritidis …

  sérotypes animaux Abortusovis Choleraesuis Gallinarum/Pullorum …

  sérotypes humains Typhi …

- **Peu résistantes aux agents physico-chimiques**

  mais survie prolongée dans le milieu extérieur

  transmission indirecte et directe

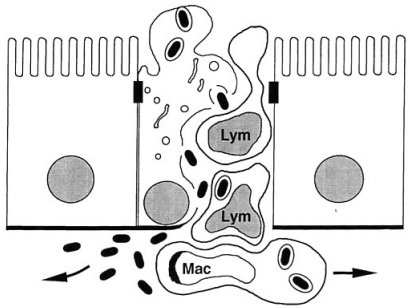
Sol 4 - 9 mois	Fientes → 28 mois
Eau du robinet 87 J	Duvets → 5 ans
Bouse de vache desséchée 30 mois	Coquille d'œuf 12 J 37°C
Lisier 5 semaines	Carcasse de poulet 13 mois -20°C

Pouvoir pathogène

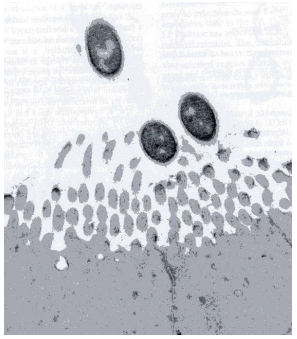
- **Virulence variable**
  +++ → opportuniste

Ubiquistes	Spécifiques
Portage +++ Virulence ± Diarrhées	O portage Virulence +++ Septicémies

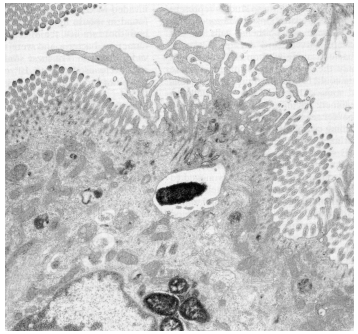
- **Entéroinvasives**
- **Multiplication intracellulaire facultative (macrophages)**
  - **opportunisme**
  - **immunité cellulaire**
  - et humorale
- R pouvoir bactéricide sérum
- Sidérophores
- **Toxine : LPS**



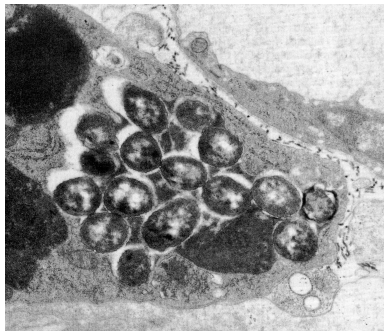
Raupach *et al.*, Curr Topics Microbiol Immunol 1999 **236** : 137



adhésion



invasion



macrophage

Darwin et Miller, Clin Microbiol Rev 1999 **12** : 405

■ **Adhésion**

↓

■ **Invasion** → **Diarrhées ± hémorragies**

Cellules M

Entérocytes

↓

Veau
Bovins
Cheval
…

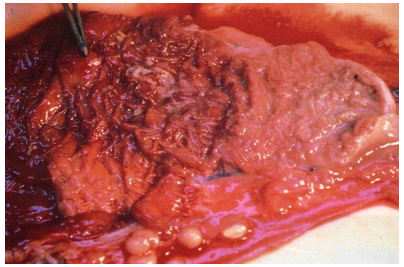
■ **Phagocytose**

Macrophages

↓

NL mésentériques

Cliché
M Savey



Clichés
JL Martel

↓

■ **Bactériémie** → **Septicémies**

Veau
Poulain …

→ **Localisations II^res^**

Génitales → **Brebis, Vache**

Respiratoires → Bovins

Articulaires → Pigeon

Nerveuses → Porc

↓

Foie
Rate

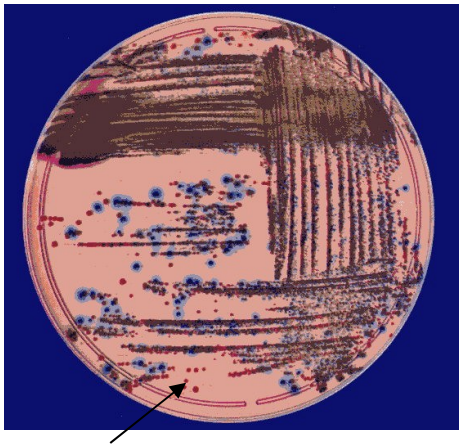
volaille

Diagnostic

- <u>Direct</u>
- **Parfois recours à sélection ± enrichissement**
- **Identifier le sérotype**
- Sérologie : pullorose

} **temps, coût**

SM ID bioMérieux



Salmonella ?

Traitement

- **Antibiothérapie si salmonellose clinique**

évolution vers la résistance

Prophylaxie

- **Sanitaire**
- Médicale

multiplicité des sérovars

vaccins vivants > vaccins tués

salmonellose abortive ovine souche Rev6

Salmonelloses chez l'homme

- **Sérovars ubiquistes ZOONOSE**

  toxi-infections d'origine alimentaire

  œufs, ovoproduits > viandes, volailles > lait, produits laitiers

  ***Salmonella* Enteritidis > *Salmonella* Typhimurium**

infections des poulettes futures pondeuses et des poules pondeuses par sérovars Enteritidis, Typhimurium = MRLC + …

norme 0 dans les aliments

hygiène sur toute la chaîne alimentaire, réfrigération

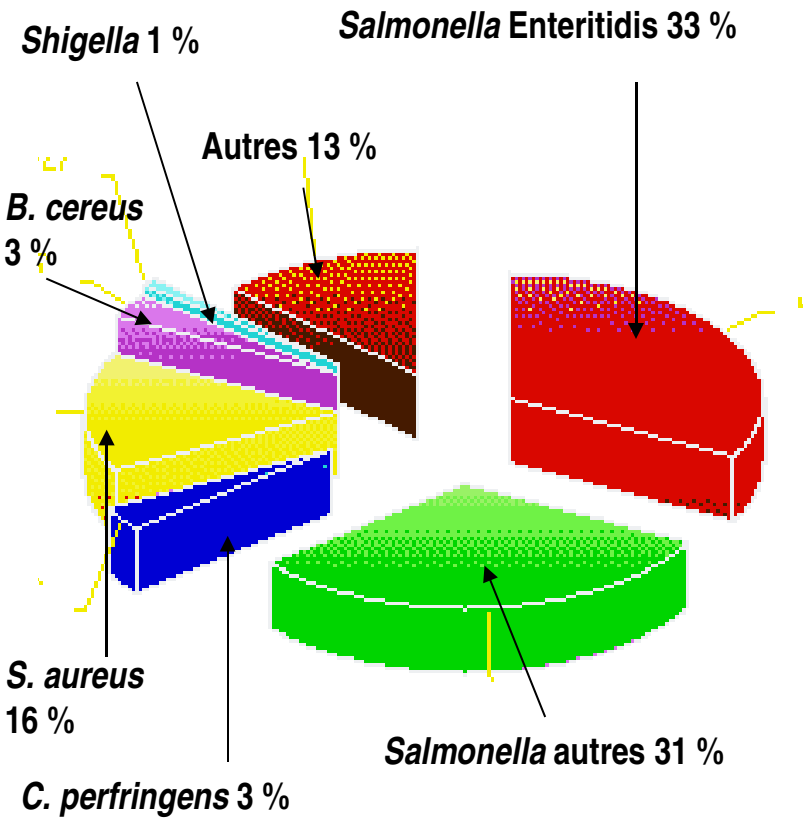
contamination directe animal – homme (reptiles …)

- **Sérovars spécifiques**

TIAC en France

Agent causal	Foyers déclarés aux Ddass ou DSV							
	Foyers		Cas		Hospitalisés		Décédés	
Agents confirmés	N	%‡§	N	%‡§	N	%	N	%
Salmonella	118	52,7%	810	28,4%	188	23,2%	1	0,12%
dont								
Enteritidis	53	44,9%	382	47,2%	114	29,8%	0	-
Typhimurium	26	22,0%	218	26,9%	33	15,1%	1	0,46%
Hadar	1	0,8%	4	0,5%	3	75,0%	0	-
Autres sérotypes *	6	5,1%	25	3,1%	0	-	0	-
Sérotypes indéterminés	32	27,1%	181	22,3%	38	21,0%	0	-
Clostridium perfringens	11	4,9%	774	27,1%	3	0,4%	0	-
Staphylococcus aureus	38	17,0%	379	13,3%	60	15,8%	0	-
Bacillus cereus	11	4,9%	254	8,9%	39	15,4%	0	-
Histamine	14	6,3%	89	3,1%	4	4,5%	0	-
Shigella	6	2,7%	27	0,9%	13	48,1%	0	-
Campylobacter	5	2,2%	45	1,6%	5	11,1%		
Virus	7	3,1%	276	9,7%	1	0,4%	0	-
Autres pathogènes †	14	6,3%	201	7,0%	128	63,7%	0	-
Total agents confirmés	**224**	**35,6%**	**2855**	**100,0%**	**441**	15,4%	**1**	**0,04%**
Agents suspectés		%		%		%		%
Salmonella	28		289		69		0	-
Clostridium perfringens	31		911		7		1	0,11%
Staphylococcus aureus	89		1270		97		0	-
Bacillus cereus	43		547		7		0	-
Histamine	13		87		4		0	-
Virus	14		603		3		0	-
Autres pathogènes §§	25		253		16		1	0,40%
Total agents suspectés	**243**	**38,6%**	**3960**	**44,0%**	**203**	**28,4%**	**2**	**0,05%**
Total agents inconnus	**162**	**25,8%**	**2190**	**24,3%**	**72**	**10,1%**	**0**	
Total TIAC	**629**	**100,0%**	**9005**	**100,0%**	**716**	**100,0%**	**3**	**0,03%**

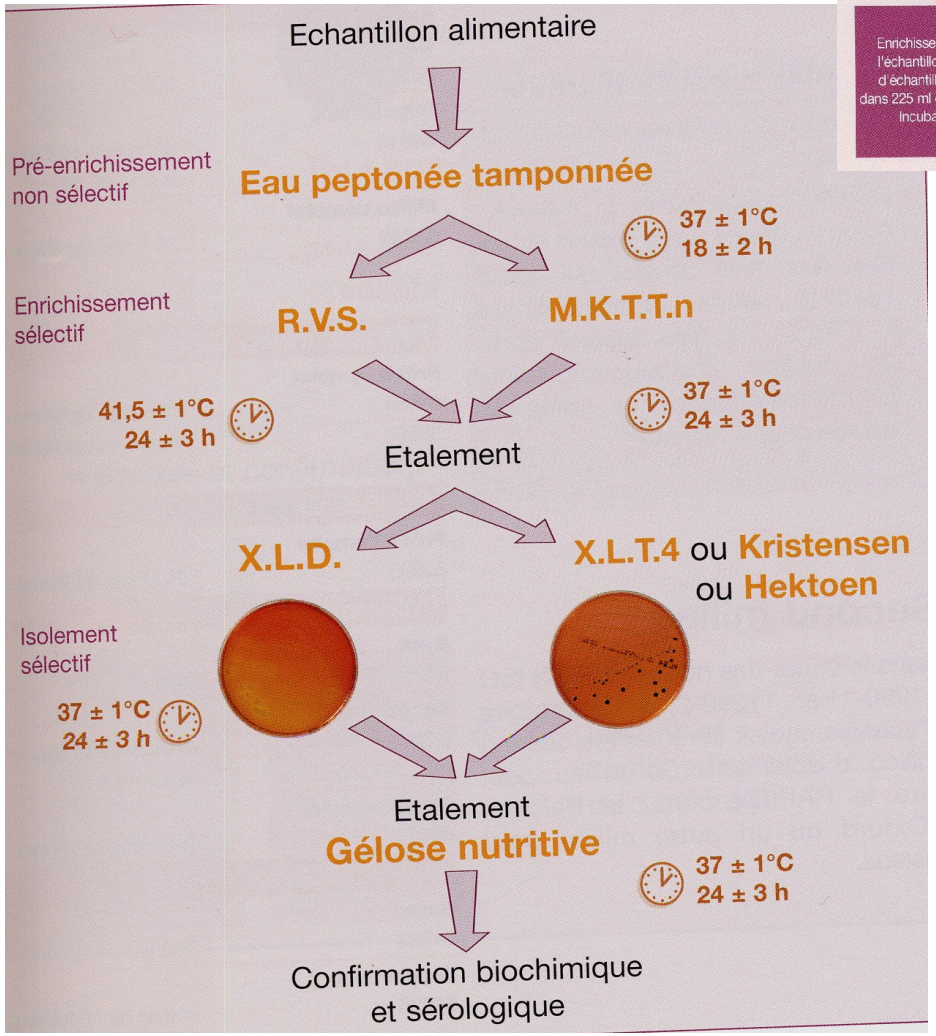
2004

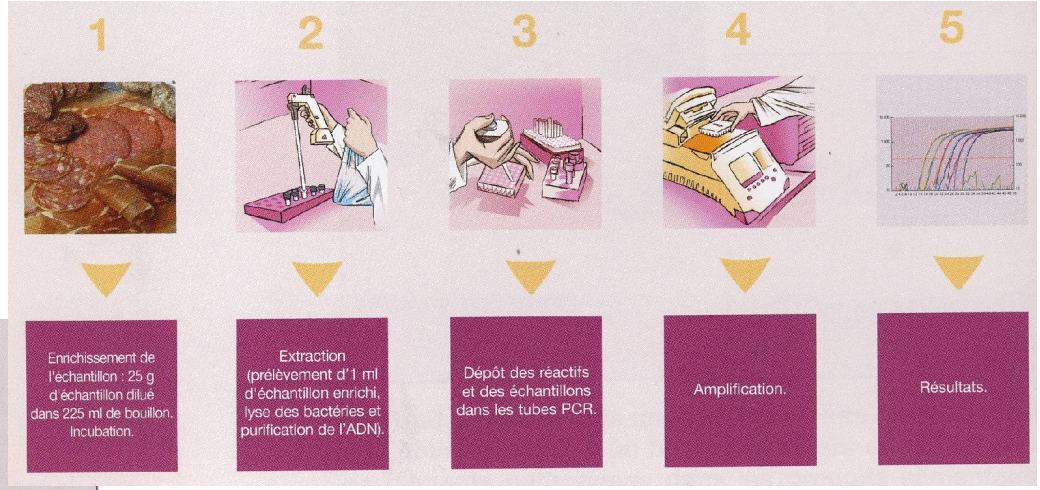


2001

Détection des salmonelles dans les aliments

Norme NF en ISO 6579

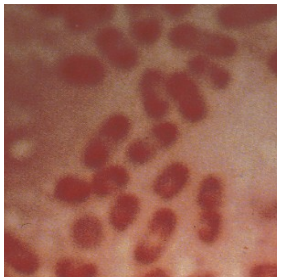




PCR en temps réel

Le genre *Yersinia*

- **Petits coccobacilles**
- **Topt : 28°C**
- Lactose$^-$, ONPG$^+$, gaz$^-$



Yersinia pestis, Y. pseudotuberculosis, Y. enterocolitica

pathogènes homme + animal

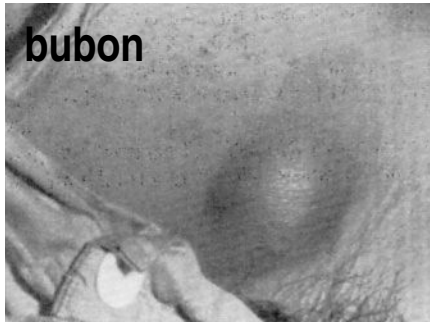
ZOONOSES

Yersinia sp. : environnement

"***Yersinia***" ***ruckeri***

Septicémie hémorragique Salmonidés

Y. pestis, Y. pseudotuberculosis, Y. enterocolitica



- **Lymphotropisme**

- **Bactéries à multiplication extracellulaire stricte**

  Le plasmide pYV code pour un appareil de sécrétion de type III qui permet l'exportation de protéine Yop inhibant la phagocytose par les macrophages

Perry et Fetherston
Clin Microbiol rev 1997 **10** : 35

Yersinia pestis

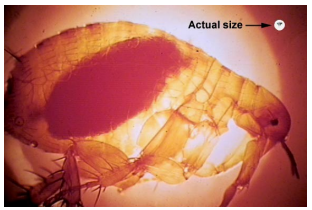
Perry et Fetherston
Clin Microbiol rev 1997 **10** : 35

Peste sylvatique
Endémique

Wild Rodent
Direct Contact
ingestion
Carnivores
Winter Dormancy
Contaminated Soil
Infective Flea
Direct Contact
Hibernation
Wild Rodent
Infective Flea
Direct Contact
Direct Contact
Domestic Rodent
May progress to
Secondary Plague Pneumonia
Person to Person
Bubonic Plague
Pneumonic Plague Epidemic
Infective Flea
Direct Contact
Infective Flea
Domestic Rodent

Pathways	
———	Usual
- - - -	Occasional
. . . .	Rare or theoretical

Peste urbaine
Epidémique



Y. pseudotuberculosis

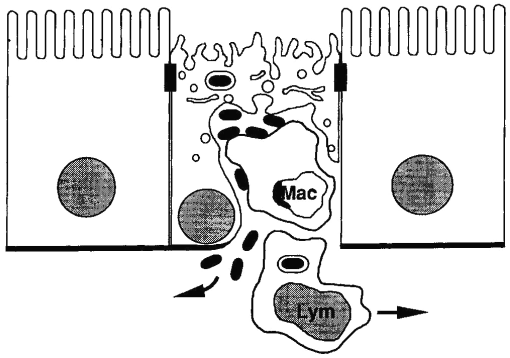
■ **Adhésion**

↓

■ **Invasion**

Cellules M

↓



■ **Phagocytose**

Macrophages

↓

NL mésentériques

↓

Portage asymptomatique

Rongeurs, lagomorphes

Oiseaux, chat, …

Homme

↓

■ **Bactériémie**

↓

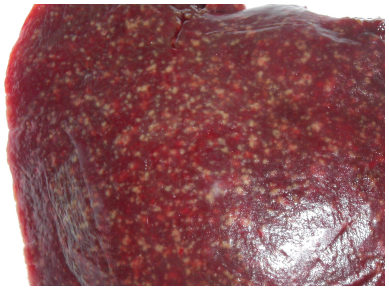
Foie

Rate

↓

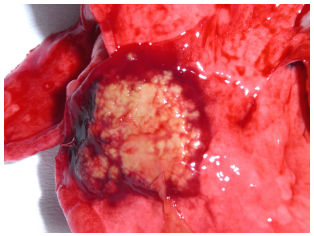
■ **Septicémie**

Localisations II^res^



Pseudotuberculose

Lièvre, cobaye



Clichés J Vialard

Y. enterocolitica

Bactérie psychrophile
Espèce très hétérogène

■ Adhésion

↓

■ Invasion

↓

Commensale
± saprophyte
environnement
aliments
lait et dérivés
végétaux
eaux

■ Phagocytose
Macrophages

↓

NL mésentériques

↓

Homme

Des souches pathogènes
Toxi-infections alimentaires
Zoonose ? (porc)

↓

■ Bactériémie

↓

Foie
Rate

↓

Parfois pathogène
Lièvre, chinchilla
Chèvre, singe …

■ Septicémie
Localisations II^{res}